

**FUNKCIJA BUBREGA – PROCENA BRZINE GLOMERULARNE FILTRACIJE**

## RENAL FUNCTION – ESTIMATION OF GLOMERULAR FILTRATION RATE

Marijana Dajak<sup>1</sup>, Svetlana Ignjatović<sup>2</sup>, Nada Majkić-Singh<sup>2</sup><sup>1</sup>*Institute of Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia*<sup>2</sup>*Institute of Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia and School of Pharmacy, University of Belgrade*

**Kratak sadržaj:** Brzina glomerularne filtracije (GFR) je široko prihvaćena kao najbolja opšta mera funkcije bubrega. Vodiči američke Nacionalne fondacije za bubrege definišu hroničnu bubrežnu bolest (HBB) bilo sa vrednošću GFR koja je manja od 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> ili sa prisustvom oštećenja bubrega, bez obzira na uzrok, u toku 3 ili više meseci i klasifikuju stadijume težine HBB prema GFR. GFR se može meriti kao urinarni ili plazma klirens egzogenih filtracionih markera kao što je inulin. Međutim, zbog teškoća u primeni, troškova i radijacionog izlaganja, ove metode imaju ograničenu upotrebu u rutinskim laboratorijama. Klirens kreatinina može biti korisna alternativa kada egzogeni markeri nisu dostupni, ali sakupljanje urina u vremenskim intervalima nije pogodno za pacijente i osetljivo je na grešku pri sakupljanju. GFR se često procenjuje klinički iz serumskih koncentracija egzogenog kreatinina ili cistatina C. Cistatin C u serumu još uvek nije adekvatno procenjen kao indeks GFR, a na kreatinin u serumu utiču GFR i faktori nezavisni od GFR, uključujući godine, pol, rasu, telesnu veličinu, ishranu, izvesne lekove i laboratorijske analitičke metode. Prema kliničkim vodičima Nacionalne fondacije za bubrege, kliničke laboratorije bi trebalo da izdaju »procenjen« GFR (*estimated* GFR), izračunatu iz prediktivnih jednačina, kao dodatak izveštavanja vrednosti markera u serumu. Trenutno preporučena jednačina za procenu je razvijena iz MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) studije. Ova jednačina koristi godine, pol, rasu (afro-američka prema ne-afro-američkoj) i koncentraciju kreatinina u serumu, a ne zahteva varijablu za telesnu težinu zato što normalizuje GFR za standardnu telesnu površinu od 1,73 m<sup>2</sup>. Da bi se postigla poboljšana tačnost preračunate GFR sa ovom jednačinom, preporučuje se da komercijalne metode za kreatinin budu kalibrisane prema sertifikovanim referentnim materijalima i sledljive sa IDMS (*isotope dilution mass spectrometry*) metodologijom. Za MDRD jednačinu je pokazano da je korisna za pacijente sa HBB, ali njena upotreba je još uvek nejasna za ljude sa niskim vrednostima kreatinina u serumu i visokim vrednostima za GFR, uključujući zdrave pojedince, decu i trudnice. Validacione studije su u razvoju kako bi se procenila MDRD jednačina za druge etničke grupe i različita bolesna stanja.

**Ključne reči:** brzina glomerularne filtracije, kreatinin, cistatin C, jednačina iz MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) studije, referentni standardi

**Summary:** The glomerular filtration rate (GFR) is widely accepted as the best overall measure of kidney function. American National Kidney Foundation guidelines define chronic kidney disease (CKD) by either a GFR of less than 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> or the presence of kidney damage, regardless of the cause, for 3 or more months, and classify stages of CKD severity according to GFR. GFR can be measured as the urinary or plasma clearance of exogenous filtration markers such as inulin. However, because of difficulty in use, expenses and radiation exposure, these methods have limited use in the routine laboratories. Creatinine clearance may be a useful alternative when exogenous markers are not available, but timed urinary collection is not convenient for patients and is susceptible to error during collection. GFR is often estimated clinically from serum concentrations of endogenous creatinine or cystatin C. Serum cystatin C has not yet been adequately evaluated as an index of GFR, and serum creatinine is affected by the GFR and by factors independent of GFR, including age, sex, race, body size, diet, certain drugs and laboratory analytical methods. According to National Kidney Foundation clinical guidelines, clinical laboratories should report an estimated GFR, calculated from prediction equations, in addition to reporting the serum marker value. The currently recommended estimating equation was developed from the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study. This equation uses age, sex, race (African-American vs. non-African-American), and serum creatinine concentration, and does not require a body weight variable because it normalizes GFR for a standard body surface area of 1.73 m<sup>2</sup>. To achieve improved accuracy of calculated GFR with this equation, it is recommended that commercial creatinine methods should be calibrated against certified reference material and should be traceable to IDMS (*isotope dilution mass spectrometry*) methodology. MDRD equation has been shown to be useful for CKD patients, but its use is still unclear for people with low values for serum creatinine and high values for GFR, including healthy individuals, children and pregnant women. Validation studies are in progress to evaluate the MDRD equation for other ethnic groups and various disease conditions.

**Keywords:** glomerular filtration rate, creatinine, cystatin C, MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) study equation, reference standards

Uvod

Hronična bolest bubrega (HBB) je glavni javni zdravstveni problem širom sveta. U Americi (SAD) incidencija i prevalencija zadnjeg stadijuma renalne bolesti, bubrežna insuficijencija koja se leči dijalizom i transplantacijom su se četvostruko povećale u poslednje dve decenije. U Evropi, godišnja incidencija bubrežne insuficijencije se udvostručila u toku poslednje decenije i sada dostiže približno 135 novih pacijenata na milion stanovnika (1).

Kada se ustanovi prisustvo HBB, za dalju procenu i praćenje bolesti neophodna je identifikacija uzroka i kliničkog stadijuma. Faktori rizika za hroničnu bolest bubrega uključuju: hipertenziju, *diabetes mellitus*, kardiovaskularnu bolest, starost preko 60 godina i porodičnu istoriju. Funkcija bubrega opada progresivno tokom vremena kod većine renalnih bolesti, što vodi komplikacijama kao što su hipertenzija, poremećaj ravnoteže soli i vode, anemija, malnutricija, bolesti kostiju, neuropatija i eventualno renalna insuficijencija (2). Pored toga, osobe sa umereno smanjenom funkcijom bubrega imaju povećan rizik od kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta (3).

Brzina glomerularne filtracije (GFR, *glomerular filtration rate*) je široko prihvaćena kao najbolja mera funkcije bubrega. Prema američkim organizacijama: *National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (K/DOQI) i *National Kidney Disease Education Program* (NKDEP) rane faze hronične bolesti bubrega definišu se sa GFR manjom od 60 mL/min/1,73m<sup>2</sup> ili prisustvom oštećenja bubrega, bez obzira na uzrok, tri ili više meseci (4). Oštećenje bubrega se dijagnostikuje prisustvom bilo mikroalbuminurije ili proteinurije, perzistentne glomerularne hematurije, patološkim abnormalitetima (npr. abnormalna renalna biopsija) ili anatomskim abnormalitetima (abnormalan nalaz *imaging* postupaka). Prag GFR od 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> je odabran kao definicija HBB zato što pri ovoj vrednosti kod odraslih približno pola normalne funkcije bubrega je izgubljeno, a što predstavlja uzrok nekoliko mogućih kompli-

kacija. Američka fondacija za bubrege je takođe klasifikovala stadijume težine HBB koji se pretežno zasnivaju na proceni GFR (*Tabela I*).

Merenje brzine glomerularne filtracije

GFR se meri kao renalni klirens određenih supstanci iz plazme i izražava se kao volumen plazme iz koga se ta supstanca potpuno ukloni (putem bubrega) u toku jednog minuta. Idealni marker za GFR je onaj koji se slobodno filtrira kroz kapilarni zid, koji se ne izlučuje niti reapsorbuje u renalnim tubulama, koji ne podleže ekstrarenalnoj eliminaciji i čija koncentracija u plazmi je konstantna. GFR se meri u apsolutnim vrednostima (mL/min) ili u relativnim vrednostima koje su korigovane sa vrednošću za telesnu površinu (mL/min/1,73 m<sup>2</sup>).

Egzogeni filtracioni markeri

GFR može da se meri kao urinski ili plazma klirens egzogenih supstanci kao što su inulin, ioheksol, <sup>51</sup>Cr-EDTA, <sup>125</sup>J-iotalamat ili <sup>99m</sup>Tc-dietilentriamin pentasircetna kiselina. Ove tehnike su precizne i tačne, ali su vremenski zavisne, skupe, dovode do radioaktivnog izlaganja i komplikovane su za izvođenje u rutinskoj laboratorijskoj praksi.

Endogeni filtracioni markeri – kreatinin

Kreatinin uglavnom potiče iz metabolizma kreatina i fosfokreatina iz mišića i kao takav reflektuje mišićnu masu i malo varira iz dana u dan. Kreatinin se filtrira u glomerulama i sekretuje se od strane ćelija proksimalnih tubula. Određivanje kreatinina u serumu postalo je glavni parametar za evaluaciju renalne funkcije u standardnom laboratorijskom profilu. Postoji nelinearna recipročna veza između kreatinina u serumu i GFR, što čini koncentracije kreatinina neosetljivim za detekciju blagih do umerenih redukcija u GFR. Kod većine pacijenata sa oslabljenom bubre-

Tabela I Stadijumi hronične bolesti bubrega (5)

Stadijum HBB	Opis	GFR, mL/min/1,73 m <sup>2</sup>	Praćenje bolesti
1	Oštećenje bubrega sa normalnom ili povišenom GFR	> 90	<ul style="list-style-type: none"><li>• Dijagnoza</li><li>• Tretman kliničkog stanja</li><li>• Usporavanje progresije</li><li>• Redukcija rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti</li></ul>
2	Oštećenje bubrega sa blago smanjenom GFR	60–89	<ul style="list-style-type: none"><li>• Procena progresije</li></ul>
3	Umereno smanjenje GFR	30–59	<ul style="list-style-type: none"><li>• Procena i tretman komplikacija</li></ul>
4	Ozbiljno smanjenje GFR	15–29	<ul style="list-style-type: none"><li>• Upućivanje kod nefrologa i razmatranje primene dijalize</li></ul>
5	Bubrežna insuficijencija	< 15	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ako je prisutna uremija primena dijalize ili transplantacija</li></ul>

žnom funkcijom, kreatinin u serumu prelazi gornju granicu referentnog intervala ako je GFR snižena za više od 50%. Ako predhodne bazalne koncentracije nisu dostupne, vrednost unutar referentnog opsega neće privući kliničku pažnju za potencijalno smanjenje u GFR. Kada se procenjuje vrednost kreatinina u serumu mora se uzeti u obzir sledeće (6):

- razlike u mišićnoj masi zavisne od pola, starosne dobi i rase menjaju produkciju kreatinina;
- razlike u ishrani menjaju koncentraciju kreatinina (npr. kod vegeterijanaca su niže);
- koncentracije kreatinina su smanjene kod malnutricije, amputacije ekstremiteta, hospitalizovanih pacijenata, ciroze jetre, inflamacije i drugih hroničnih bolesti (npr. maligniteti, teške kardiovaskularne bolesti);
- pojedini lekovi povećavaju koncentraciju kreatinina tako što inhibiraju njegovu tubularnu sekreciju (cimetidin i trimetoprim) ili inhibiraju njegovu gastrointestinalnu degradaciju (antibiotici širokog spektra), a pri tome GFR može ostati nepromenjena;
- pri niskim nivoima GFR, intestinalna eliminacija kreatinina može biti povećana;
- kreatinin u serumu nije pogodan da prikaže brze promene u GFR.

Najčešće metode koje se koriste za određivanje kreatinina u serumu su metode sa alkalnim pikratom (*Jaffe*-ova metoda) i enzimska ili delimično enzimska određivanja. Prisustvo interferirajućih supstanci u serumu (posebno proteina) mogu dovesti do povećanja koncentracije kreatinina za 15–25% kod raznih aplikacija *Jaffe*-ove metode. Mnoge endogene i egzogene interferirajuće supstance doprinose nedostatku analitičke specifičnosti kod *Jaffe*-ove metode. Interferencije koje potiču od glukoze i acetoacetata su posebno važne zato što su dijabetičari visoko rizična grupa za razvoj HBB (7, 8). Kod dece postoji povećan odnos pseudo-kreatininskih hromogena prema kreatininskim hromogenima u poređenju sa odraslima, što vodi smanjenoj tačnosti u detekciji poremećaja bubrežne funkcije. Enzimске metode koje su razvijene kao alternativa metodama sa alkalnim pikratom generalno pokazuju manje interferencija nego *Jaffe*-ova metoda. Međutim, pokazano je da bilirubin, metamazol, 5-fluorocitozin, dopamin, dobutamin, o-rafinoza unakrsno vezani hemoglobin i monoklonalni IgM interferiraju sa enzimskim metodama za kreatinin.

Visoko efikasne tačni hromatografski (HPLC) postupak i izotop-dilucione maseno spektrometrijske (IDMS) metode su razvijene za procenu stvarne koncentracije kreatinina, jer imaju veliku osetljivost i analitičku specifičnost. Kombinacija gasne hromatografije (GC) i IDMS se smatra metodom izbora za utvrđivanje tačne koncentracije kreatinina, zbog visoke specifičnosti i standardne devijacije manje od 0,3%. GC-IDMS postupak zahteva derivatizaciju kreatinina

zbog njegove polarnosti i uklanjanje derivata kreatina na katjonskoj izmenjivačkoj koloni pre GC analize. Nedavno je pokazano da metode HPLC-IDMS i LC-IDMS (LC, tačna hromatografija) imaju znatno jednostavniju i bržu pripremu uzorka i komparativne su sa GC-IDMS, pa se smatra da su pogodnije za validaciju stvarne koncentracije kreatinina (9).

Na postojećim analizatorima aplikacije kinetičke *Jaffe*-ove metode u nerazblaženom serumu ili plazmi daju pozitivno odstupanje kada se uporede sa IDMS ili HPLC metodom, naročito pri koncentracijama unutar referentnog intervala (10). Program IMEP-7 (*International Measurement Evaluation Program*) je sproveden u više od 800 laboratorija iz 35 zemalja i pokazao je pozitivno odstupanje između 10% i 15% u pool uzorku koncentracije kreatinina od 75  $\mu\text{mol/L}$  (11). Sistemske razlike u kalibraciji metoda za kreatinin u serumu su u 85% slučajeva odgovorne za razlike između laboratorija (12). Programi spoljašnje kontrole kvaliteta (EQAS, *External Quality Assessment Schemes*), gde je korišćena GS-IDMS kao referentni merni postupak, su pokazali da veliki broj rutinskih metoda za kreatinin u serumu imaju visoko odstupanje koje je u opsegu od  $-5,3 \mu\text{mol/L}$  do  $27 \mu\text{mol/L}$ , pri koncentraciji kreatinina od približno  $80 \mu\text{mol/L}$ . Greška u procenjenoj GFR koja obuhvata ceo opseg ovih odstupanja je bila od  $+7,5\%$  do  $-27\%$  (13, 14).

#### Klirens kreatinina

Kreatinin se slobodno filtrira u glomerulama i sekretuje u urin u proksimalnim tubulama. Klirens kreatinina sistemski precenjuje GFR za približno 10–40% kod zdravih osoba kao posledica njegove tubularne sekrecije. Vrednosti se povećavaju više kod pacijenata sa HBB zbog sekrecije kreatinina u crevima i njegove degradacije od strane bakterija. Pošto urin ne sadrži pseudo-kreatinske hromogene, klirens kreatinina je sistematski snižen ako se koristi aplikacija *Jaffe*-ove metode. Međutim, izmeren klirens kreatinina približuje se nivou GFR, zato što je razlika između izmerenog i stvarnog klirensa kreatinina slična u veličini klirensa kreatinina prouzrokovanog tubularnom sekrecijom. Drugi nedostatak metode su problemi oko nekompletnog sakupljanja urina. Sakupljanje uzoraka urina tokom određenih vremenskih perioda je komplikovan postupak za pacijente i osetljiv je na grešku koja nastaje u toku njegovog sakupljanja.

Merenje klirensa kreatinina korišćenjem uzoraka urina sakupljenim u određenim vremenskim periodima ne poboljšava procenu GFR u poređenju sa prediktivnim jednačinama koje se koriste da bi se izračunala »procenjena« GFR (*estimated GFR*, eGFR) na osnovu vrednosti kreatinina u serumu. Međutim, postoje izuzeci od ovog pravila, pošto kreatinin u serumu (i iz njega izračunata eGFR) ne odražava tačno GFR kod pacijenata sa posebnim načinom ishrane (npr. vegeterijanci, prekomerno unošenje kreatina) ili sa

abnormalnom mišićnom masom (npr. amputacije, gubitak mišićne mase). Da bi se dobila tačnija vrednost eGFR, kod ovih pacijenata trebalo bi i dalje primenjivati merenje klirensa korišćenjem uzoraka urina sakupljenim u određenim vremenskim periodima (2).

Endogeni filtracioni markeri – cistatin C

Cistatin C je neglikozilirani osnovni protein (13,4 kDa) i pripada familiji cistein proteaza inhibitora. Cistatin C stvaraju sve nuklearne ćelije konstantnom brzinom tokom celog života. Iz cirkulacije se eliminiše skoro potpuno putem glomerularne filtracije. U odsustvu značajnog oštećenja tubula, cistatin C se reapsorbuje i metaboliše u epitelijalnim ćelijama proksimalnih tubula i ne vraća se u cirkulaciju u nepromenjenoj formi. Koncentracija cistatina u serumu je nezavisna od mišićne mase i pola u starosnom dobu od 1 do 50 godina. Kao i za kreatinin u serumu, postoji inverzna nelinearna veza između GFR i cistatina C u serumu. Međutim, pronađeno je da je stepen korelacije između cistatina C i smanjenja GFR u opsegu od 80 do 40 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> veći u poređenju sa korelacijom koja se odnosi za kreatinin (15).

Cistatin C u serumu još uvek nije adekvatno procenjen kao indeks GFR (16). Za cistatin C se pretpostavlja da ima prednosti kada je kreatinin u serumu izrazito pod uticajem ekstrarenalnog patološkog procesa, npr. u kod pacijenata sa reumatoidnim artritisom koji primaju nesteroidne antiinflamatorne lekove, kod pacijenata sa karcinomom pre i za vreme hemoterapije, kod pacijenata sa cirozom jetre, kod pacijenata sa multiplim mijelomom i kod sumnje na preklampsiju. Koncentracija cistatina C u serumu je opisana kao pouzdan marker za procenu GFR kod starijih osoba, kod renalne transplantacije, kod *diabetes mellitus*-a (samo kod pacijenata sa blagom dijabetičnom nefropatijom), kod pacijenata sa povredom kičme i kod različitih renalnih bolesti. Kod novorođenčadi, cistatin C bi trebalo rutinski da se koristi jer na njegove nivoe u serumu ne utiču maternalne koncentracije, a osim toga njegova stabilnost od prve do osamnaeste godine života može poboljšati evaluaciju bubrežne funkcije u zdravlju i bolesti, bez obzira na varijable koje potencijalno utiču na koncentracije kreatinina u serumu. Međutim, postoji nekoliko razloga za nedostatak superiornosti nad kreatininom, zato što koncentracije cistatina C mogu biti pod uticajem faktora koji nisu vezani za renalnu funkciju, kao što su pušenje, bolesti jetre, terapija glukokortikoidima i tiroidna bolest (2).

Procena brzine glomerularne filtracije primenom prediktivnih jednačina

Prediktivne jednačine su nastale primenom regresionih tehnika na povezanost između serumskih nivoa filtracionih markera i izmerene GFR u proučavanoj populaciji.

Jednačine za preračunavanje GFR iz vrednosti kreatinina u serumu

Prediktivne jednačine za preračunavanje GFR iz vrednosti kreatinina u serumu su razvijene za decu (Tabela II) i odrasle (Tabela III). Jednačine izvedene iz kreatinina mogu prevazići neke od ograničenja primene rezultata određivanja samo kreatinina u serumu zato što one uključuju varijable kao što su pol, godine starosti, rasu, telesnu površinu kao zamenu za mišićnu masu (5). Prediktivne jednačine koje se uglavnom koriste kod dece su *Schwartz*-ova (17) i *Counahan-Barrat*-ova (18) formula. Kreatinin je određen modifikovanom metodom sa alkalnim pikratom i obe formule daju GFR u apsolutnim vrednostima (mL/min).

Kod odraslih se koristi jednačina koju su predložili Cockcroft i Gault, kao i jednačina iz MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) studije (tabela III). *Cockcroft-Gault*-ova formula se široko upotrebljava u farmokokinetičkim studijama kao vodič za doziranje lekova koji se eliminišu putem bubrega. Razvijena je 1973. godine iz podataka dobijenih od 249 muškaraca sa klirensom kreatinina u rasponu od 30 do 130 mL/min (19). Ova jednačina predviđa primenu klirensa kreatinina (mL/min) iz koncentracije kreatinina u serumu, telesne težine i godina starosti. Klirens nije prilagođen za površinu tela. Kreatinin je određen modifikovanom metodom sa alkalnim pi-

Tabela II Prediktivne jednačine za preračunavanje GFR iz kreatinina kod dece

<b>Schwartz-ova jednačina:</b> GFR (mL/min) = 0,55 × [visina (cm)] / [S <sub>Cr</sub> (μmol/L) / 88,4]
<b>Counahan-Barrat-ova jednačina:</b> GFR (mL/min) = 0,43 × [visina (cm)] / [S <sub>Cr</sub> (μmol/L) / 88,4]

S<sub>Cr</sub> – koncentracija kreatinina u serumu

Tabela III Prediktivne jednačine za preračunavanje GFR iz kreatinina kod odraslih

<b>Cockcroft-Gault-ova jednačina:</b> C <sub>Cr</sub> (mL/min) = [(140 - godine) × telesna težina (kg)] / [0,81s4 × S <sub>Cr</sub> ] × [0,85 ako je žena]
<b>MDRD jednačina:</b> GFR = 32,788 × [S <sub>Cr</sub> ] <sup>-1,154</sup> × [godine] <sup>-0,203</sup> × [0,742 ako je žena] × [1,210 ako je crnac]
<b>»Korigovana« MDRD jednačina:</b> GFR = 30,849 × [standardizovan S <sub>Cr</sub> ] <sup>-1,154</sup> × [godine] <sup>-0,203</sup> × [0,742 ako je žena]

C<sub>Cr</sub> – klirens kreatinina; S<sub>Cr</sub> – kreatinin u serumu u μmol/L; GFR je izražena u mL/min/1,73 m<sup>2</sup>.

kratom. Komparativna jednačina za žene se zasniva na njihovoj 15% nižoj mišićnoj masi. *Cockcroft-Gault*-ova formula sistematski precenjuje GFR zbog tubularne sekrecije kreatinina. Pokazano je da je ova jednačina manje tačna kod starijih i gojaznih osoba (20).

Jednačina iz MDRD studije (*Tabela III*) daje vrednost GFR prilagođenu površini tela od 1,73 m<sup>2</sup>, potiče od populacije nehospitalizovanih pojedinaca sa hroničnom bubrežnom bolešću i ne uključuje zdrave osobe. Izvedena je iz vrednosti GFR izmerenih preko klirensa iotalamata kod 1 628 odraslih osoba i zatim je potvrđena kod druge grupe od 1 775 odraslih osoba u AASK (*African American Study of Kidney Disease*) studiji (21, 22). Koncentracije kreatinina su određene modifikovanim metodom sa alkalnim pi-kratom.

Jednačina iz MDRD studije je izdata i za pre-računatu GFR iz vrednosti kreatinina u serumu koje su sledljive sa IDMS i označena je kao »korigovana« MDRD jednačina (*Tabela III*). Kod pacijenata sa hroničnom bubrežnom bolešću, srednja vrednost razlike između određene i izračunate GFR iznosi od –5,5 do 0,9 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Približno 90% vrednosti eGFR izračunatih primenom MDRD jednačine su se slagale sa vrednostima izmerenih GFR (u opsegu od ± 30%), što je prihvatljivo za kliničku interpretaciju u identifikaciji osoba sa HBB kod kojih je GFR manja od 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> tri ili više meseci (4).

Jednačine za preračunavanje GFR iz vrednosti cistatina C u serumu

GFR može da se izračuna iz cistatina C primenom formula prikazanih u *tabeli IV*. U ovim formulama vrednostima cistatina C su dobijene različitim metodama, tako da pri preračunavanju GFR mora da se vodi računa da se koristi adekvatna jednačina. Za rezultate cistatina C dobijene PENIA metodom (*Particle-Enhanced Nephelometric Immunoassay*), GFR se može izračunati prema jednačini 4 iz *tabele IV* (23). Ova formula daje tačniju i precizniju procenu GFR kod odraslih nego *Cockcroft-Gault*-ova jednačina.

Prediktivna jednačina za GFR zasnovana jedino na koncentraciji cistatina C određenog PETIA metodom (*Particle-Enhanced Turbidimetric Immuno-*

*assay*) koristi se za odrasle, a ako se koriguje dodatnim faktorom može se koristiti i za decu (jednačina 2 iz *tabele IV*). Za populaciju odraslih osoba sa GFR < 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, dobijena je osetljivost od 88% i specifičnost od 90,6%. Jednačina iz MDRD studije dala je nižu osetljivost (81,5%), ali veću specifičnost (96,2%). Kod dece ispod 14 godina, *Schwartz*-ova i *Counahan-Barrat*-ova prediktivne jednačine precenjuju GFR za 20–25%, što nije slučaj kod primene ove jednačine zasnovane na vrednostima cistatina C (24).

Takođe je moguće da se koriste formule za GFR koje su specifične za određenu bolest. Da bi se omogućilo izračunavanje GFR iz koncentracija cistatina C u serumu u grupi pacijenata sa *diabetes mellitus*-om tip 1, u koju je uključena i podgrupa zdravih nedijabetičnih osoba, razvijena je jednačina 3 iz *tabele IV*. Izračunavanje GFR iz vrednosti cistatina C kod pacijenata pokazalo je veću korelaciju sa klirensom ioheksolola nego što je slučaj sa *Cockcroft-Gault*-ovom jednačinom (25). Međutim, ovaj pristup za procenu GFR koji se odnosi na bolesno stanje nije pogodan za kliničke laboratorije jer često nedostaje klinička informacija vezana za uzorke pacijenata.

Preporuke NKDEP laboratorijske radne grupe

Izvori varijabilnosti u eGFR uključuju postojeću biološku varijabilnost u GFR, biološku varijabilnost kreatinina u serumu i greške vezane za određivanje kreatinina. Dve primarne komponente greške pri određivanju kreatinina u serumu su sistematsko odstupanje (stalna greška tipično prouzrokovana razlikom u kalibraciji između mernih postupaka) i slučajna greška koja uključuje unutar-laboratorijske efekte, između-laboratorijsku varijabilnost pri kalibraciji iz dana u dan i specifične efekte koji potiču iz samog uzorka. Poboljšanje tačnosti rezultata kreatinina zahteva da su vrednosti date od strane proizvođača za kalibracione i kontrolne materijale sledljive sa referentnim mernim postupcima i referentnim materijalima.

Trenutno dostupan primarni referentni materijal je kristalni kreatinin, koji je označen kao SRM (*Standard Reference Material*) 914a. Kalibracioni rastvori SRM 914a pripremaju se gravimetrijskim rastvaranjem kristalnog kreatinina u vodenom puferu i primarno su namenjeni za upotrebu u referentnim mernim postupcima (GC-IDMS, LC-IDMS) i nisu generalno pogodni za direktno određivanje na rutinskim kliničkim analizatorima. NKDEP i NIST (*National Institute of Standards and Technology*) su nedavno pripremili humani serumski referentni materijal za kreatinin označen kao SRM 967. Ovaj materijal je sveže zamrznuti humani serumski pool pripremljen prema CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) vodiču C-37A (26). Postoje dva nivoa koncentracija (67 µmol/L i 346 µmol/L) i vrednosti su utvrđene od strane NIST-a primenom GC-IDMS i LC-IDMS. Sličnost SRM 967

Tabela IV Prediktivne jednačine za GFR zasnovane na vrednostima cistatina C

1. $GFR (mL/min/1,73 m^2) = 78 \times 1/cistatin C (mg/L) + 4$
2. $GFR (mL/min/1,73 m^2) = 84,69 \times [cistatin C (mg/L)]^{-1,680} \times [1,384 \text{ za decu} < 14 \text{ god.}]$
3. $GFR (mL/min/1,73 m^2) = 87 \times [1/cistatin C (mg/L)] - 6,9$
4. $GFR (mL/min/1,73 m^2) = 80,35 \times [1/cistatin C (mg/L)] - 4$
5. $GFR (mL/min) = 74,84 \times 1/[cistatin C (mg/L)]^{1,33}$

sa nativnim kliničkim uzorkom bi trebala uskoro da bude eksperimentalno utvrđena primenom raznih mer-nih postupaka i referentnih metoda (9).

Ustanovljavanje merne sledljivosti je važno za postizanje neophodne komparabilnosti rezultata kreatinina određenih različitim metodama i/ili u različitim laboratorijama. Da bi se ovo postiglo neophodna je međunarodna saradnja između proizvođača za *in vitro* dijagnostiku, kliničkih laboratorija, profesionalnih organizacija, državnih agencija i EQAS organizatora (11).

Pre nego što se sprovede standardizacija određivanja kreatinina, NKDEP laboratorijska grupa preporučuje neposredno sprovođenje preračunavanja eGFR sa jednačinom iz MDRD studije. Kliničke laboratorije bi trebale da izdaju koncentraciju kreatinina u  $\mu\text{mol/L}$  (kao cele brojeve) zajedno sa vrednošću eGFR. Odstupanje u kalibraciji i nepreciznost određivanja kreatinina u serumu imaju veći uticaj na nesigurnost merenja eGFR kada je nivo kreatinina blizu gornje granice referentnog intervala što je bitan opseg za detekciju rane HBB ( $\text{GFR} < 60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ ). Zato NKDEP trenutno preporučuje da se eGFR iznad  $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  izdaje kao  $\gg 60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ , a ne kao tačna numerička vrednost (4).

NKDEP takođe preporučuje da posle rekalkulacije metoda za određivanje kreatinina prema IDMS, povećanje relativne greške za eGFR ne bi trebalo da bude veće od 10%. Rutinske metode mogu da postignu ovu vrednost totalne greške ako je analitička nepreciznost (uključujući među-laboratorijsku varijabilnost u kalibraciji) manja od 8% i ako je analitičko odstupanje (u poređenju sa IDMS referentnim mer-nim postupkom) manje od 5% pri koncentracijama kreatinina u serumu  $\geq 88,4 \mu\text{mol/L}$  (9).

Ograničenja primene MDRD jednačine za izračunavanje eGFR (9):

- jednačina može biti netačna kod pacijenata na dijalizi ili kod vrlo brzih promena renalne funkcije (npr. kod akutne bubrežne insuficijencije);
- primena jednačine kod zdravih osoba, potencijalnih davaoca bubrega, populacije bez hronične bubrežne bolesti (npr. mladi pacijenti sa *diabetes mellitus*-om tip 1 bez mikroalbuminurije) ili kod pacije-

nata sa hroničnom bubrežnom bolešću i  $\text{GFR} > 90 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ ) je nejasna;

- jednačina je primenljiva za odrasle od 18 godina i starije;
- nije validna za izvesne etničke grupe;
- jednačina nije testirana kod starijih od 75 godina, trudnica, kod pacijenata sa istovremeno prisutnim drugim teškim bolestima, kod osoba sa ekstremnom telesnom površinom, mišićnom masom ili nutritivnim statusom;
- nije ispitana primena jednačine u doziranju lekova;
- većina rutinskih metoda ima zadovoljavajuću preciznost; međutim, postojeće odstupanje koncentracije kreatinina u ovim metodama je suboptimalno za postizanje prihvatljive totalne greške za procenu GFR upotrebom MDRD jednačine;
- odstupanja zbog analitičkih nespecifičnosti, pronađenih u individualnim uzorcima pacijenata, mogu značajno uticati na tačnost eGFR izračunate iz vrednosti kreatinina u serumu;
- standardizacija kalibracije neće korigovati analitičke interferencije (nespecifično odstupanje); informacije o nespecifičnosti određivanja moraju biti date od strane proizvođača *in vitro* dijagnostike.

S obzirom na sva ova ograničenja u literaturi su data kontraverzna mišljenja o izveštavanju eGFR zajedno sa vrednostima određivanja kreatinina. Rainey (27) smatra da dok ne bude postojalo dosledno određivanje kreatinina i prediktivna jednačina sa boljom dijagnostičkom tačnošću za zdravu populaciju, primena eGFR bi trebalo ograničiti samo na *screening* visoko-rizičnih osoba i za praćenje pacijenata sa dijagnostikovanom HBB. S druge strane Levey i sar. (28) smatraju da je MDRD jednačina prihvatljivo tačna i trenutno korisna jer se pokazalo da je izveštavanje eGFR zajedno sa rezultatima određivanja kreatinina, povećalo prepoznavanje HBB 22% do 85%, kao i da je eGFR manja od  $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  udružena sa lošim ishodom naročito kod kardiovaskularnih bolesti. Takođe, ukoliko kliničari koriste i kliničke podatke zajedno sa vrednostima za eGFR smanjuje se rizik od loše klasifikacije HBB (28).

*Zahvalnost.* Rad je finansiran na osnovu Ugovora br. 145010B sa MNTR Srbije.

## Literatura

1. El Nahas AM, Bello AK. Chronic kidney disease: the global challenge. *Lancet* 2005; 365: 331–40.
2. Thomas L, Huber AR. Renal function – estimation of glomerular filtration rate. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44 (11): 1295–302.
3. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension* 2003; 42: 1050–65.
4. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, clas-

- sification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: Suppl 1: S1–S266.
5. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function – measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 2006; 354: 2473–83.
  6. Thomas L. Creatinine. In: Thomas L, editor. *Clinical laboratory diagnostics*. Frankfurt: TH Books, 1998: 366–71.
  7. Lo SC, Tsai KS. Glucose interference in Jaffe creatinine method: effect of calcium from peritoneal dialysate. *Clin Chem* 1994; 40: 2326–7.
  8. Koumantakis G, Wyndham L. Fluorescein interference with urinary creatinine and protein measurements (Letter). *Clin Chem* 1991; 37: 1799.
  9. Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, et al. Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the laboratory working group of the National Kidney Disease Education program. *Clin Chem* 2006; 52: 5–18.
  10. Carobene A, Ferrero C, Ceriotti F, Modenese A, Besozzi M, De Giorgi E, et al. Creatinine measurement proficiency testing: assignment of matrix-adjusted ID GS-MS target values. *Clin Chem* 1997; 43: 1342–7.
  11. Panteghini M, Myers GL, Miller WG, Greenberg N. The importance of metrological traceability on the validity of creatinine measurement as an index of renal function. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 1287–92.
  12. Ross JW, Miller WG, Myers GL, Praestgard J. The accuracy of laboratory measurements in clinical chemistry: a study of 11 chemistry analytes in the College of American Pathologists Survey with fresh frozen serum, definitive methods, and reference methods. *Arch Pathol Lab Med* 1998; 122: 587–608.
  13. Seccombe DW, Tholen D, Jacobson BE. Standardization of creatinine: a pre-requisite for implementing the MDRD formula for the estimation of glomerular filtration rate (eGFR). *Clin Chem* 2005; 51 (Suppl): A44.
  14. Miller WG, Myers GL, Ashwood ER, Killeen AA, Wang E, Thienpont LM, et al. Creatinine measurement: state of the art in accuracy and inter-laboratory harmonization. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 129: 297–304.
  15. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, et al. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Kidney Int* 1995; 47: 312–8.
  16. Stevens LA, Levey AS. Chronic kidney disease in the elderly. How to assess risk? (Editorial). *N Engl J Med* 2005; 352: 2122–4.
  17. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM Jr, Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976; 51: 259–63.
  18. Counahan R, Chantler C, Ghazali S, Kirkwood B, Rese F, Barratt TM. Estimation of glomerular filtration rate from plasma creatinine concentration in children. *Arch Dis Child* 1976; 51: 875–8.
  19. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16: 31–41.
  20. Cirillo M, Anastasio P, De Santo NG. Relationship of gender, age and body mass index to errors in predicted kidney function. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1791–8.
  21. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D, et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. *Ann Intern Med* 1999; 130: 461–70.
  22. Lewis J, Agodoa L, Cheek D, Greene T, Middleton J, O'Connor D, et al. African-American Study of Hypertension and Kidney Disease. Comparison of cross-sectional renal function measurements in African Americans with hypertensive nephrosclerosis and of primary formulas to estimate glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 744–53.
  23. Hoek FJ, Kemperman FA, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2024–31.
  24. Grubb A, Nyman U, Björk J, Lindström V, Rippe B, Sterner G, et al. Simple cystatin C based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. *Clin Chem* 2005; 51: 1420–31.
  25. Tan GD, Lewis AV, James TJ, Altman P, Taylor RP, Levy JC. Clinical usefulness of cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 2004–9.
  26. Clinical and Laboratory Standards Institute. Preparation and validation of commutable frozen human serum pools as secondary reference materials for cholesterol measurement procedures; approved guideline. CLSI document C37-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
  27. Rainey PM. Automatic reporting of estimated glomerular filtration rate – jumping the gun? *Clin Chem* 2006; 52: 2184–7.
  28. Levey AS, Stevens LA, Hostetter T. Automatic reporting of estimated glomerular filtration rate – just what the doctor ordered. *Clin Chem* 2006; 52: 2188–93.

*Rad primljen: 15. 12. 2006*

*Prihvaćen za štampu: 17. 01. 2007*